



TITLE:

<研究報告>乾酪性物質の軟化融解
現象に関する酵素学的研究(〔第5
部〕 生化学部)

AUTHOR(S):

西岡, 諄

CITATION:

西岡, 諄. <研究報告>乾酪性物質の軟化融解現象に関する酵素学的研究
(〔第5部〕 生化学部). 京都大学結核研究所年報 1950, 1: 99-105

ISSUE DATE:

1950-03-31

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/50944>

RIGHT:

〔第5部〕 生 化 學 部 （主任 助教授 辻 周介）

乾酪性物質の軟化融解現象に関する酵素学的研究

西 岡 諄

第 1 篇 正常淋巴組織の蛋白分解酵素に関する研究

（結核研究第5巻第1～3合併号に発表済）

第 2 篇 結核性淋巴組織の蛋白分解酵素に関する研究（抄）

緒言並びに實驗方法

第1篇に於て余は人及牛の正常淋巴組織に「カテプシン」作用を証明したが、「トリプターゼ」作用は確認し得なかつた。そこで本篇に於ては同一實驗方法により、寒性膿瘍形成に至らぬ人及牛の結核性淋巴組織の解蛋白作用を検索し、両者の間に如何なる差異が存するやを吟味した。

實驗成績

人及牛の結核性淋巴組織の自家融解並にその「グリセリン」抽出液の「ゲラチン」分解に当つては共に pH 4.0~5.0（人0.14, 牛0.11）（括弧内の数字は「フオルモール」滴定法による酸値増加量を N/10 NaOH量で示せるものである。以下同じ）及び pH 7.0~8.0（人0.11, 牛0.09）を至適環境とする2箇の高点より成る AKtivitäts-pH-Kurve を示し、青酸若くは「チステイン」附加により pH 4~5 の環境に於ては該作用の増強（人0.24, 牛0.15）が確認せられたが、pH 7~8 の環境では寧ろ抑制（人0.07 牛0.10）せられる結果を得た。又第1篇の正常淋巴組織に於ける成績と比較して、人に於てはその弱酸性域に於ける分解度及び賦活分解度がより著しい事が認められたが、牛に於ては反つて正常淋巴組織の方が著明であつた。更に弱酸性域に於ける分解作用は Michaelis 氏緩衝液よりも Mc Ilvaine 氏緩衝液を使用した方が著しく、中性乃至弱「アルカリ」性域に於けるそれは Mc Ilvaine 氏緩衝液よりも Sørensen 氏緩衝液を使用した方が著しかつた。

考按及び結論

（1）以上の實驗成績より結核性淋巴組織には正常淋巴組織に認められた「カテプシン」作用の外に明かに「トリプターゼ」作用が証明せられた。この「トリプターゼ」が乾酪病竈の軟化融解現象に対して、可成りの意義を有するものと思はれる。

（2）一方人に於ては正常淋巴組織よりも結核性淋巴組織の方に「カテプシン」活性並びに青酸賦活「カテプシン」活性が著しいけれども、牛に於てはかゝる事実を認めない事、結核性淋巴組織の「カテプシン」活性並に賦活「カテプシン」活性が牛よりも人の組織に著しいという事実及び牛の乾酪病竈は人のそれよりも軟化融解し難いといふ事実を考へ合せれば、嘗て辻の主張せる如く、この「カテプシン」も乾酪病竈の軟化融解現象の發現に重要な役割を演ずるものと思惟せられる。

(3) 「カテプシン」の検索には Michaelis の醋酸塩緩衝液よりも Mc Ilvaine の枸橼酸磷酸塩緩衝液を用ふる事、又「トリプターゼ」の検索には Sørensen の磷酸塩緩衝液を使用するが適當條件である。

第3篇 健康人血清蛋白分解酵素に関する研究(抄)

緒 言

前2篇に於て正常淋巴組織と結核性淋巴組織との間に酵素学的に若干の差異ある事を証明したのであるが、かゝる差異が健康人並びに結核患者の血清間にもあるのではなからうかと予想し、手始めに健康人血清の蛋白分解酵素作用を吟味した。

実験方法

(1) 先づ Stepphuhn 等の「カゼイン」吸着法で血清中の Antiproteinase を除いて「カゼイン」分解作用を検した。即ち血清1容、1% 中性「カゼイン」溶液3容、醋酸塩緩衝液(pH4.0) 1容を混じて生じた「カゼイン」(以下「カ」と略す)の沈澱を2容の0.2%炭酸曹達溶液に溶解せしめ、Mc Ilvaine氏緩衝液1容を加へて一定のpH價に補正し、その2.0ccに就て一定時間37°C孵置前後の「アミノ」(以下「ア」と略す)窒素量を Van Slyke の装置により測定し、その増加量(mg)を以て血清蛋白分解酵素に依る「カ」分解値とした。

(2) 次に血清をそのまま酵素液として、その自家融解及び異種蛋白分解作用を検した。

(イ) 血清2.0cc, 4%「カ」又は8%「ゲラチン」(「ゲ」)溶液4.0cc, 緩衝液(pH3~6はMc Ilvaine氏液、pH7~8はSørensen氏、m/15 磷酸塩緩衝液) 6.0ccを混じ、その2.0ccに関して(1)と同様孵置前後の「ア」窒素の増加量を測り分解値とした。更にこの反應系の緩衝液1.0ccの代りに10% KCN 溶液1.0cc, 若くは塩酸「チス테인」(「チ」)溶液1.0cc(中に5mgの「チ」を含む)を混じて分解値を比較した。

(ロ) 血清2.0ccと緩衝液5.0cc或は10.0ccとの混合液の2.0ccについても(イ)と同様測定した。

(ハ) 以上の実験により後記の如く、その蛋白分解作用は「トリプターゼ」系酵素に依る事が解つたので、この酵素の由來を吟味すべく、腸活素による賦活試験を行つた。即ち新鮮豚十二指腸粘膜を肉挽器を用ひて粥狀となし、その重量の2倍容の87%「グリセリン」水及び若干の「クロロフォルム」を加へ、時々振盪し乍ら37°Cに24時間保置の後遠心分別した上澄液(pH價を7.0に補正)を腸活素浸出液として用ひた。血清2.0cc, 4%「カ」4.0cc, 上記浸出液2.0cc, 緩衝液4.0ccを混和して主実験系となし、血清2.0cc, 4%「カ」4.0cc, 緩衝液6.0ccを混じて第1対照実験系、該浸出液2.0cc, 4%「カ」4.0cc, 緩衝液6.0ccを混じて第2対照実験系、浸出液2.0ccに緩衝液10.0ccを混じたものを第3対照実験系となしpH7.0及8.0の環境に於て24時間37°Cに孵置し、各系の2.0ccに関して(1)に於けると同様その前後の「ア」窒素増加量を測定し、腸活素の賦活性を吟味した。

実験成績及び結論

(1) 「カ」吸着法によつても、血清をそのまま酵素液として使用しても、その「カ」分解作用は、至適反應環境をpH7.0附近とし、それより酸性側には緩に、活性側には急にその作用を減弱し、pH7.0の環境では24時間で略々その分解を停止する事が明かになつた。(pH7.0, 24時間での分解値は、吸着法では0.049mg, 血清をそのまま酵素液とする方法では0.043mg)

(2) 血清の「ゲ」分解作用は「カ」分解作用より遙かに微弱であるが「カ」の場合と同様、pH7.0を至適環境とする Aktivitäts-pH-Kurve を示し、至適環境に於ける24時間での分解値は0.020mgであつた。

(3) 血清に依る「カ」分解作用も「ゲ」分解作用も青酸や「チ」附加による影響を蒙らなかつた。

(4) 血清の自家融解作用は僅微で、無視し得る程度であつた。

(5) 豚十二指腸粘膜浸出液による血清蛋白分解酵素の賦活は認められなかつた。

(1) (2) (3) の事實は健康人血清には「トリプターゼ」系蛋白分解酵素が含まれて居る事を明示するものである。

第4篇 肺結核患者血清中の蛋白分解酵素に関する研究 (抄)

緒 言

前篇に於て余は健康人血清の「トリプターゼ」作用を明かにしたが、肺結核病竈の軟化融解に際して、病竈に存する蛋白分解酵素が血中に移行する事は容易に想像し得る処であり、かゝる見地から本篇に於ては肺結核患者血清中の該酵素を、健康人のそれと質的量的に比較検討し、更に肺虚脱療法の該酵素作用に及ぼす影響を観察して興味ある知見を得た。

実験方法及び実験成績

前篇と全く同一の方法により軽症並びに重症肺結核患者の血清蛋白分解作用を観察した処、健康人血清に於けると全く同様、pH7.0 附近を至適環境とする蛋白分解作用が見られ、而も青酸附加による影響も自家融解作用も殆んど認められず、腸活素による賦活も認められなかつた。即ち肺結核患者血清と健康人血清との間には、蛋白分解酵素の上に差異なきを知つた。そこで余は更に、その至適環境なる pH7.0 に於ける24時間孵置による「カ」分解値を、前篇の実験方法の條下(2)(イ)の方法により病期別、「レ」線像上の空洞の有無別に定量的に檢して比較した。病期分類は概ね宮川の方法に拠り、夫々その初期を軽症、第1, 2期を中等症、第3期及末期を重症とし、全身状態極めて悪く死前期にある者を最重症とした処、血清の「カ」分解値は軽症者(19名)で最も少く(平均 0.022mg)、次で健康人(33名, 0.032mg)更に中等症(17名, 0.044mg)重症(13名, 0.054mg)最重症(10名, 0.062mg)の順に増加し、空洞の無い者(16名, 0.021mg)に比して之を有する者(33名, 0.058mg)ではこの分解値が著しく大であつた。次で同一実験方法に拠つて肺虚脱療法の前、直後又1ヶ月以上後に於ける血清の「カ」分解値を比較した処(茲に直後と称するは胸廓成形術若くは肋膜外充填術の翌日又人工氣胸術開始後4日目即ち2回目送氣後を意味する。)、肺虚脱療法施術直後に於ては血清「カ」分解値は大体に於て(27例中増加16例、不変11例)増加し、施術1ヶ月以上後に於ては該値は大多数(38例中減少25例不変12例、増加1例)術前より減少する事を認めた。

考按及び結語

以上の成績を総括すると次の如くなる。

(1) 肺結核患者血清にも健康人血清と同じく「トリプターゼ」が証明せられ、両者の間に蛋白分解酵素の上に質的な差異はない。

(2) この血清「トリプターゼ」作用は健康人又軽症者に比して中等症、重症、最重症の順に増強し空洞を有する者のそれは無き者に比して強い。

第1, 第2篇に於て余は乾酪性物質の軟化融解には、病竈中の「トリプターゼ」が相当な役割を演ずるらしい事を指摘したのであるが、肺結核に於ては病期の進むに従つてその乾酪性病竈の軟化融解を多く伴ふに至る事は自明の事實である。而も末期重態に進むにつれて、末梢血液中の「トリプターゼ」作用が増強するといふ此の事實より、該病竈に存する「トリプターゼ」の一部が血行中に入るのではなからうかと推測せられる。

(3) 肺虚脱療法の施術直後にも血清「トリプターゼ」作用が増強するのであるが、之は病竈内の該酵素が肺虚脱によつて血行中に侵入する爲と考へられる。

(4) 肺虚脱療法実施1ヶ月以上後の血清「トリプターゼ」作用は多くは術前よりも減弱を示すのであるが、之はかゝる療法によつて病狀が軽い方に移行し、乾酪病竈の軟化融解現象が減退した爲ではなからうか。

(5) 以上の諸項より、肺結核患者の血清「トリプターゼ」の測定により、空洞の有無、病期及び予後の判断の参考となし得る事、更に肺虚脱療法実施に当つて、該療法が治病的に働いて居るか否かの指標となし得る事を知得した。

第5篇 末梢血液像並に血清抗「トリプシン」價と血清蛋白分解酵素作用との關係(抄)

緒 言

第3, 第4篇に於て余は人血清中には「トリプターゼ」が存在する事、及びその作用は健康人では比較的著しいが輕症肺結核患者では減弱し、重症となると再び著明に増強する事を報告したが、本篇に於ては該酵素が白血球に由來するものであるか否かを闡明する目的で末梢血液像と該酵素作用との關聯性を吟味し、更に何故輕症患者でその量が減少するかの疑問を解決すべく、古くより知られて居り、結核症の場合に増加すると称されて居る血清抗「トリプシン」價(抗「ト」價と略す)と該酵素作用との關係を検討した。

先人の業績によると好中球には「カテプシン」の外に腸活素により賦活せられぬ「トリプシン」が含まれて居るが、その他の血球は「トリプシン」を含有せぬ由であり、他方肺結核の初最輕症患者では好中球減少症、重症ではその増多症が証明せられて居るので、余は特に好中球に着目したのである。

実験方法

血清蛋白分解酵素作用の觀察は前篇に記した如く、血清をそのまま酵素液とし、「カ」を基質とする実験方法に依つた。而してpH7.0に於ける24時間孵置による「ア」窒素増加量(mg)を以て血清による「カ」分解値とした。

末梢血液像としては好中球のみを選び、その絶対数を白血球総数と該球百分率から計算した。

血清抗「ト」價はFuld-Groß氏法の和合氏改良法(東京医事新誌2609号261頁)により算出した。勿論採血は早朝空腹時に行ひ、末梢血液像と血清の「カ」分解作用測定は同時に行つた。

実験成績及び考按

(1) 肺結核患者末梢血液中の好中球絶対数と血清の「カ」分解作用との關係は、両者の相關表(略)から相關係数を算出すると、 $r = +0.49$ その平均差 $mr = 0.098$ となる事より、好中球が多くなるに従ひ、血清「カ」分解値も大となる事を知つた。

(2) 健康人及び各病期肺結核患者(病期分類は前篇の通り)の血清抗「ト」價を測り、その平均値を算出したら、該價は健康人(33名)(250.5)より輕症者(19名)(318.6)に於て著しく高く、それよりは病期と共に減少するものである事を知つた。即ち中等症(17名)(299.6)重症(13名)(277.1)最重症(10名)(211.4)の順に減少する。而して中等症、重症者に於ては尙健康人より高い血清抗「ト」價を示す事は注目に値する。何故なればこの事実と前篇に於て既報の血清「カ」分解値は輕症者で最も少く、次で健康人、更に中等症重症最重症の順に増加し、而も中等症に於ては既に健康人のそれを凌駕する値を示すと云ふ事實は、病期と共に血清の「カ」分解値が増加するのは、血清抗「ト」價の減少の爲のみならず、該酵素の血清中の絶対量が増加する爲による事を明示するからである。而

して軽症者に於ける該酵素作用の減弱は血清抗「ト」價の増加の爲であらう事も理解し得る。

(3) 血清「カ」分解値と血清抗「ト」價との相関表(略)を作製し、それに就て両者の相関係数を算出すると $r = -0.78$ $mr = 0.040$ となり、両者の間には明かな逆相関が成立して居り、その一方が減弱するにつれて他方が増加する事を知つた。

結 語

(1) 末梢血中の好中球絶対数と血清の蛋白分解作用とは相当な程度の正の相関々係にある。

(2) 血清抗「ト」作用は肺結核の病期と共に変動し、健康人より軽症者に於て高く、それよりは病期の進むにつれて低下する。

(3) 血清「カ」分解作用と血清抗「ト」價との間には明かな逆相関が成立して居る。

(4) 血清の「カ」分解値が軽症者で著しく低いのは血清抗「ト」作用の故であり、該分解値が病期と共に増加するのは抗「ト」作用が病期と共に減少する爲の外、血清中の該酵素の絶対量が増す爲と考へられる。之は増数した好中球或は病竈中の増強「トリプターゼ」の血中出現による事を考慮すべきと思ふ。

第6篇 健康並に結核感染家兎血清中の蛋白分解酵素に関する研究(抄)

緒言及び実験方法

前3篇に於て余は人血清蛋白分解酵素作用が肺結核の病期殊に病竈の軟化融解現象と密接に關聯して消長する事実を認めたが、かかる關係が結核性動物に於ても認められるか否かを吟味すべく、比較的大量の採血可能なる家兎(体重2疋前後のもの)の「レーメル」氏反應陰性なのを確かめた後、早朝空腹時心臓穿刺により採血して血清を得、その「カ」分解作用は觀察し、更に結核人型菌「フランクフルト」株(卵培地に4週間培養集落)又は牛型菌1号株(同じく3週間培養のもの)の夫々15mg, 10mgを含む浮遊液を氣管内に点滴狀に注入接種し、その直前、1ヶ月後、2ヶ月後に同様に於て採血しその「カ」分解作用を測定比較した。この測定は第3篇実験方法の條下(2)(イ)記載の方法に依り24時間孵置による分解値を觀察してAktivitäts-pH-Kurveを得、更にその至適pH價(7.0)に於ける24時間分解値を各家兎につき測り、その推移を觀察した。又血清の抗「ト」價をも同時に測つた(前篇の方法による)。而して接種2ヶ月後の採血直後に実験動物を屠殺して剖檢した。

実験成績

(1) 健康家兎血清の「カ」分解作用に及ぼす環境 pH 價の影響を觀るに、人血清の場合と同様、家兎血清に於ても pH7.0 を至適環境とする「カ」分解作用(pH7.0に於ける分解値0.038mg)が証明せられ、而も該作用は胃酸附加によつて影響せられなかつた。

(2) 健康家兎15頭につき、2週間々隔にて夫々2回宛 pH7.0に於ける血清「カ」分解値を測定せるにその最大値は 0.054mg, 最小値は 0.018mg, 平均値は 0.036mgで個体差は相当大であるが同一個体に於ける変動は著しくなく、該値と血清抗「ト」價との間には確實な相関々係は見られず、後者の個体差は余り著しくなかつた(200~333)。

(3) 結核感染家兎血清の「カ」分解値は概ね感染前のそれに比して、又接種2ヶ月目は1ヶ月目に比して減少の傾向にあり(1例を挙げれば、接種前分解値0.037mg, 1ヶ月後0.031mg, 2ヶ月後0.024mg)、血清抗「ト」價は之に反して増加の傾向を示した(例へば接種前250.0, 接種1ヶ月後285.7, 2ヶ月後333.3)。而して人牛両菌株とも接種菌量は相当多かつたにも拘らず、剖檢上比較的病的所見が軽く、而も乾酪病変部の軟化融解は全く認められなかつた。

考按及び結語

実験成績を総括すると以下の如くなる。

(1) 家兎の血清中には人のそれと同様の蛋白分解酵素が存在し、それは「トリプターゼ」と考へられる。

(2) 健康家兎血清による「カ」分解値 ($\text{NH}_2 - \text{Nmg}$) の平均値は0.036mgである。この値は第4篇に示した健康人血清による「カ」分解値 (平均0.032mg) に近似せるものである。

(3) 軽症結核感染家兎に於ける血清「カ」分解値は健康時に比して減少の傾向にあり、それに反して血清抗「ト」價は増加して居る。この事実は第5篇に述べた軽症肺結核患者に於ける血清抗「ト」價と血清「プロテイナーゼ」作用との関係に一致する處であり、余の場合、家兎の病変比較的軽く、而もその病変部の軟化融解を來した症例の無かつた事実と考へ合せれば一應説明し得るのではなからうか。

又上記家兎の病変が接種菌量に比して軽かつたのは、接種後その一部が氣道を経て咯出せられた爲か、若くは剖検迄の日数の稍少きに失した爲かと思惟せられる。

第7篇 正常並びに結核性淋巴腺よりの輸出淋巴清の蛋白分解酵素に関する研究 (抄)

緒言

第1, 第2篇に於て余は人及牛の正常淋巴組織には「カテプシン」のみが証せられるのに反して、結核性淋巴腺では「カテプシン」の他に「トリプターゼ」も証せられる事を明かにし、第3篇以下では人及家兎の血清中には「トリプターゼ」のみが証せられ、その作用は乾酪病竈の軟化融解の進行につれて増強する事を証明したが、以上の2事実より淋巴清中にも「トリプターゼ」が存在し、而も結核性淋巴腺よりの輸出淋巴と正常淋巴腺よりのそれとの間に該酵素作用の異変あるべき事が予想せられる。而も余の知る範囲に於ては末梢淋巴の眞正蛋白分解酵素に関する業績は皆無である。之余が本研究に着手せる所以である。

実験方法

先づ健康家兎の膝膕淋巴腺よりの輸出淋巴を舟岡教授門下の辻の方法により採取し、更に心臓穿刺により血液を採り、夫々淋巴清及血清を得、直ちにその「カ」分解作用を第5篇実験方法の條下記載の方法で測定比較した。但し使用諸液量は既述の諸量の夫々 $\frac{1}{2}$ を用ひ、その混合液1ccに関して24時間37°C 孵置前後の増加「アミノ」窒素量 (mg) を測定して「カ」分解値とした。之は淋巴の採取量に制限があり、2.0ccの淋巴清が必ずしも常に得られなかつた爲である。

次に健康家兎の一側の膝膕淋巴腺への輸入淋巴管内に牛型結核菌1号株の淨遊液0.1cc (0.1mgの菌を含む) を、他側の同淋巴管内には滅菌生理的食塩水の同量を注入して皮膚縫合の後30日目に両側の同淋巴腺よりの輸出淋巴及び血液を同時に採取して前後同様「カ」分解値を測定比較した。而して淋巴採取後淋巴腺を摘出し、型の如く組織切片を作り「ヘマトキシリン、エオジン」重染色を施し鏡檢した。

上記輸入淋巴管内に注入するには、家兎を腹臥位に固定後、腓腸部の皮膚を血管に沿つて切開し、腓腸筋上を走る靜脈に沿つて存する輸入淋巴管を見出し、1/5注射針を以て注入するのである。

実験成績、考按及び結語

(1) 正常淋巴腺よりの輸出淋巴清に依る「カ」分解値は血清のその半値を示し (1例を挙げると血清 0.023mg, 淋巴清 0.010mg)、その作用は僅微であつた。

(2) 結核性淋巴腺並に对照淋巴腺よりの輸出淋巴清の「カ」分解値も前項同様僅微であつて、両者間に量的差異を認め難く、前項同様血清値の約半値を示した(1例を挙げると血清値 0.018mg, 接種例淋巴清 0.011mg, 对照側 0.009mg)。

この(1)の事実は血清「トリプターゼ」の源が淋巴系統乃至四肢の軟部組織に存在しない事を示唆するものであり、(2)の事実と第1, 第2篇の事実とを綜合して考へると、少くとも軟化融解に至らない結核性淋巴組織は、その含有する「トリプターゼ」をその組織を流れる淋巴中に放出しないか、若くは家兎淋巴腺に生じた結核病竈が余りに小なる爲、その放出する「トリプターゼ」量が少く、余の測定方法を以てしては差を生ずるに至らなかつたかの孰れかであろうと推測せられる。因に余の得たる結核性淋巴腺標本に於ては病竈の軟化融解は全く認められなかつた。

(第2篇以下は結核研究第6巻に掲載の豫定。)

[本研究には文部省科學研究費の補助を受けた。記して謝意を表する。]

諸種有機化合物の蒸氣の結核菌に對する 抗菌作用及毒性に關する實驗的研究

- 第1篇 諸種有機溶劑の蒸氣の結核菌に對する抗菌作用に就て
第2篇 高重合性有機化合物及其他の有機化合物の蒸氣の結核菌に對する抗菌作用に就て
第3篇 諸種有機化合物の蒸氣の毒性に就て

米 津 徹 也

第1篇

緒言 諸種揮發性物質の蒸氣体を吸入せしめて空洞及氣管支潰瘍面の淨化作用を促進せしめんとする⁽¹⁾ 辻の所謂「ガステラピー」の研究の第一歩として余は諸種揮發性物質蒸氣の試験管内結核菌發育阻止作用に關する實驗を企図した。蒸氣体の結核菌發育阻止に關する研究は古くは Koch Villmen⁽²⁾ を初めとし、P. Allweip⁽³⁾ W. A Collier⁽⁴⁾ u Y. Nitta,⁽⁵⁾ Herman Stadler⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾ 佐藤,⁽⁹⁾ 遠藤,⁽¹⁰⁾ 米沢,⁽¹¹⁾ 水野,⁽¹²⁾ 八谷等,⁽¹³⁾ 北本等, 中尾の研究等があるが、其等の實驗に於ける使用物質に就ても又實驗方法に關しても、未だ尙多くの考究吟味の余地を残していると考える。そこで余は從來余り實驗の対象とならなかつた所の一般に溶劑と稱せられてゐる有機化合物のうち28種類のものに就てその蒸氣の抗菌性を檢した。

實驗方法 使用菌株としては人型F株30日培養のもの、鳥型鳥京株7日培養のもの、普通大腸菌及葡萄狀球菌寺島株24時間培養のものを用ひた。培地としては人型菌は岡・片倉培地、鳥型菌は4%「グリセリン」加普通寒天培地、大腸菌、葡萄狀球菌は普通寒天培地を使用す。實驗手技は次の如し。

1。「デツキグラス」法。 人及鳥型菌の1mg1c.c.の均等浮遊液を作り、滅菌せる「デツキグラス」に一白金耳づつ平等に塗布し孵卵器内で乾燥せしめる。一方被檢有機化合物の一定量を滅菌綿花に濕し、之を滅菌「シャーレ」中に靜置して「シャーレ」中に被檢化合物の室溫飽和蒸氣を充滿せしむ。